

棉铃虫气味受体的克隆与组织特异性表达

张 帅^{1,2}, 张永军^{1,*}, 苏宏华¹, 高希武², 郭予元^{1,*}

(1. 中国农业科学院植物保护研究所植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100094;

2. 中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100094)

摘要: 气味受体在昆虫识别外界气味过程中起重要作用, 对其的研究可以帮助我们了解昆虫对气味识别的分子机制。本文通过 RT-PCR 技术, 在棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) 中克隆得到 11 条气味受体序列 (GenBank 登录号: EU599565 ~ EU599568, EU818702 ~ EU818706, FJ393455)。序列分析结果表明, HarmOR2 为非典型气味受体, 其他为典型气味受体。进化树显示, HarmOR10 与黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* DOR46a 进化关系较近, 而 HarmOR4 与果蝇味觉受体聚类在一起。棉铃虫其余气味受体与烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* 气味受体单独或几个一起处于与黑腹果蝇气味受体进化关系较远的聚类中, 而且彼此聚类关系较远。使用半定量 RT-PCR 对这些气味受体的表达谱进行研究, 结果表明: HarmOR2 在棉铃虫触角和喙中表达, 表达量在雌雄间相当。其他受体则在成虫触角中特异表达, 其中 HarmOR3, HarmOR13 和 HarmOR14 仅在雄性触角内表达; 雌性触角内 HarmOR12 和 HarmOR20 的表达量要高于雄性触角; 其余气味受体雌雄触角间表达量则相当。

关键词: 棉铃虫; 气味受体; RT-PCR; 克隆; 表达谱

中图分类号: Q965 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2009)07-0728-08

Cloning and tissue-specific expression of olfactory receptors in *Helicoverpa armigera* (Hübner)

ZHANG Shuai^{1,2}, ZHANG Yong-Jun^{1,*}, SU Hong-Hua¹, GAO Xi-Wu², GUO Yu-Yuan^{1,*} (1. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agriculture Sciences, Beijing 100094; 2. College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094)

Abstract: Olfactory receptors (ORs) play a critical role in insect olfactory system. Research on ORs can help us understand the molecular mechanism of odors discrimination in insect. In this study, 11 *Helicoverpa armigera* OR genes (GenBank accession numbers: EU599565 – EU599568, EU818702 – EU818706, FJ393455) were cloned using RT-PCR. The results of sequence analysis showed that HarmOR2 was atypical OR and the rest 10 ORs were typical ORs. Phylogenetic tree indicated that HarmOR10 and DOR46a belonged to a single cluster, while HarmOR4 belonged to a cluster of gustatory receptors (Grs). The other *H. armigera* ORs belonged to the cluster which had a long distance with *Drosophila melanogaster* ORs. We also found that HarmOR2 was expressed in antennae and proboscis of *H. armigera*, while other HarmORs were specially expressed only in the antenna of adult moth, of which HarmOR3, HarmOR13 and HarmOR14 were expressed only in the antenna of male adult. Moreover, HarmOR12 and HarmOR20 were expressed at higher level in antenna of male than that of female, while other HarmORs were expressed at the same level both in female and in male.

Key words: *Helicoverpa armigera*; olfactory receptors; RT-PCR; cloning; expression pattern

气味受体分为非典型气味受体和典型气味受体, 位于触角感觉毛中的感觉神经元上, 一般一个感觉神经元上非典型气味受体与典型气味受体共表达 (Larsson *et al.*, 2004; Couto *et al.*, 2005;

Nakagawa *et al.*, 2005; Hallem *et al.*, 2006)。气味受体对气味的识别已得到广泛的证明, 关于气味受体在气味传导中的作用却有不同的发现。气味受体一般被认为是 G 蛋白偶联受体 (GPCRs), 但其跨膜

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30871640); 植物病虫害生物学国家重点实验室项目 (SKL2007SR01)

作者简介: 张帅, 男, 1981 年 4 月生, 河南正阳人, 博士, 从事昆虫生化和分子生物学研究, 现工作单位为中国农业科学院棉花研究所, Tel.: 010-62816306; E-mail: zhsjwl@163.com

* 通讯作者 Authors for resplendence, Tel.: 010-62894786; E-mail: yuyuanguo@hotmail.com; E-mail: zyjwlx@163.com

收稿日期 Received: 2008-11-17; 接受日期 Accepted: 2009-05-03

方式与 GPCRs 不同, 通过功能鉴定对气味受体为 G 蛋白偶联受体的看法也提出挑战 (Benton *et al.*, 2006; Wistrand *et al.*, 2006; Lundin *et al.*, 2007; Smart *et al.*, 2008)。在气味受体功能鉴定中通过异源共表达黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 非典型气味受体 OR83b 与其他昆虫典型气味受体, 发现能重建气味激发的离子通道, 并且胞内 Ca^{2+} 离子浓度增加, 这说明受体与内生的信号传导途径相连; 另外 Sato 小组发现使用抑制剂抑制 G 蛋白的功能后, 表达 OR/Or83b 的细胞能被气味激发的离子通道活性并没有减弱 (Sato *et al.*, 2008)。以上实验结果说明果蝇嗅觉过程中没有 G 蛋白的参与, 气味受体不是 G 蛋白偶联受体。但是 Wicher 小组发现表达 OR/Or83b 的细胞能观察到在气味刺激后迅速产生的离子流, 与 Sato 小组发现相同的是这种离子通道的离子电导和通透性与已知的电压依赖性通道和非选择性阳离子通道相同, 他们认为昆虫在嗅觉识别过程中使用了不同寻常的策略即气味受体作为离子通道, 不过 Wicher 小组通过观察被气味刺激后依靠第二信使 cAMP 的响应峰, 发现该峰出现在刺激后 30 ~ 60 s, 他们认为果蝇嗅觉过程中至少部分有 G 蛋白的参与 (Wicher *et al.*, 2008)。另外, 研究发现在果蝇中虽然敲除 Gq 蛋白 α 亚基后神经元能在气味刺激下产生神经冲动, 但强度明显减小 (Kain *et al.*, 2008)。这可能是 G 蛋白参与调节气味受体的功能 (Benton, 2008; Chesler and Firestein, 2008)。

自 1999 年在黑腹果蝇中鉴定出第一个昆虫气味受体以来, 由于典型气味受体的同源性差, 对于这种基因的克隆一直处于停滞状态 (Pennisin, 1999; 王桂荣等, 2005)。直到后来随着果蝇和其他一些昆虫基因组工程的完成, 才使用生物信息学方法从果蝇中鉴定出 62 个气味受体基因, 从冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae*、埃及伊蚊 *Aedes aegypti*、家蚕 *Bombyx mori*、烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* 和意大利蜜蜂 *Apis mellifera* 中分别鉴定出 79, 131, 48, 21 和 170 个气味受体基因 (Fox *et al.*, 2001; Hill *et al.*, 2002; Krieger *et al.*, 2002, 2004; Sakurai *et al.*, 2004; Jones *et al.*, 2005; Robertson and Wanner, 2006; Bohbot *et al.*, 2007; Wanner *et al.*, 2007)。棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 是重要农业害虫, 它寄主广泛, 有不同季节在不同作物上危害的习性, 能够在复杂的生境中生活离不开其敏锐的嗅觉 (郭予元, 1998)。本文通过 RT-PCR 的方法从鳞翅目昆

虫棉铃虫中克隆得到 11 条气味受体序列, 其中 1 条为非典型气味受体, 其他为典型气味受体。并使用半定量 RT-PCR 方法对其表达谱进行了研究, 为研究棉铃虫气味识别分子机制打下基础。

1 材料与方法

1.1 样品与试剂

棉铃虫为本实验室人工饲料饲养获得, 在棉铃虫成虫羽化后取下触角, 立即放在液氮中冷冻, 然后置 -70°C 保存备用。T-easy 载体和反转录试剂盒购自 Promega 公司, 限制性内切酶、*Ex Taq* DNA 聚合酶购自 TaKaRa 公司。

1.2 棉铃虫不同部位不同时期总 RNA 的提取及 cDNA 的合成

根据 Trizol 试剂说明书提取棉铃虫触角总 RNA, 在 HarmPBP2 表达谱研究中分别提取初羽化的棉铃虫雌雄成虫的头部 (去除触角, 喙和下颚须)、触角、喙、下颚须、胸部、腹部、足和翅总 RNA, 其中足、触角、喙和下颚须各取 50 个 (对), 头部 (去除触角, 喙和下颚须)、胸部和腹部较大部分为 5 头成虫样品的混合。电泳与分光光度计检测后, 按照反转录系统说明书使用 OligdT15-18 为引物进行反转录获得第一链 cDNA, 以此为 PCR 模板。

1.3 克隆引物的设计与合成

根据序列对比发现已知烟芽夜蛾气味受体、气味结合蛋白与棉铃虫气味受体、气味结合蛋白在编码区有很高的同源性, 所以根据已知烟芽夜蛾 21 种典型气味受体核酸序列 (GenBank 登录号: AJ487476~AJ487484, AJ748325~AJ748336), 在其读码框两端设计保守引物 (表 1)。

1.4 PCR 扩增

以合成的 cDNA 为模板, 加入 $10 \times \text{Ex Taq}$ 缓冲液 $5 \mu\text{L}$ (含 Mg^{2+}), 正向和反向引物各 $1 \mu\text{L}$ ($10 \mu\text{mol/L}$), 2.5 mmol/L dNTP $4 \mu\text{L}$, *Ex Taq* DNA 聚合酶 $0.25 \mu\text{L}$ ($5 \text{ U}/\mu\text{L}$), 加水至 $50 \mu\text{L}$, 混匀, 离心, 放入 PCR 仪扩增。反应条件为 94°C 变性 3 min; 接着在低退火温度进行 3 个循环, 循环条件为 94°C 1 min, 42°C 1 min, 72°C 2 min; 接着在高退火温度进行 3 个循环, 循环条件为 94°C 1 min, 60°C 1 min, 72°C 2 min; 接着进行 35 个循环, 循环条件为 94°C 1 min, 55°C 1 min, 72°C 2 min; 然后 72°C 保温 10 min。

表 1 用于扩增的 PCR 引物
Table 1 Primers used in PCR

引物名称 Primer names	引物序列 (5' - 3') Primer sequences (5' - 3')
HarmOR1F/HarmOR1R	CTGGCCTTTATTTAGTACCTGCTCG/TCATGTAGCTAGTGTGTAATAATGT
HarmOR2F/HarmOR2R	ATGATGACCAAAGTGAAGGCCAGG/TTACTTGAGTTGGATCAACACCATG
HarmOR3F/HarmOR3R	ATTTGATTGACGATGGCTTCTTTTC/TTAATTGACAGCGTCGTTAAGAACT
HarmOR4F/HarmOR4R	GGAAGTGACAGCGGCCCG/TCAAATTGTCGTATCTTTGGAATTGT
HarmOR5F/HarmOR5R	GCATATTTAGACAAGGTGTTCTCT/TTATATTTTACTTTCGTTTAATGCA
HarmOR6F/HarmOR6R	ATGAACTTACGAAAATTCCTATTTCG/TCATTCTTCTTTGCTCGGAAAGA
HarmOR7F/HarmOR7R	CGATTGAAAACTCGGTGTTCTATT/TTATTTACCACCATACACAGTCTGC
HarmOR8F/HarmOR8R	TTTGTAATCGCGTTATTTTCTA/TCATTTCCGAGACTTCACATTTTGA
HarmOR9F/HarmOR9R	ATGGTCGATCAATTTCAAAAATGTT/TCACTCAGGGTGATACATAGTTTTTC
HarmOR10F/HarmOR10R	ATTGACGCGGTGCTGAAGCTTC/TATTCTGTGTTTACCCGGTTCAGGA
HarmOR11F/HarmOR11R	ATGCATCTTGCAGGCAATGCTGT/TTAAAACGTGCGTAGAAAAGCGAAG
HarmOR12F/HarmOR12R	ATGATGGAGGAGGAACCACTGCT/TTAAGTTGGTCTCCATAGAGGGTT
HarmOR13F/HarmOR13R	ATGAAAATCCTATCGGACGGTI/TTATTTCTTCTTCGCAACTGTTTTTC
HarmOR14F/HarmOR14R	ATGACAGGCATACGTGACTTTTCT/TCACCTACTGCGTAGAAAAGGTGAAA
HarmOR15F/HarmOR15R	ATGACTGGTTTTCTGATTTTCGTT/TCACATGCTGCGTAGAAAAGCGAA
HarmOR16F/HarmOR16R	ATGGGTCTCCGTCAATTTCTT/TCACATACTTCTTAAAAACGTGAAG
HarmOR17F/HarmOR17R	ATGCTCTGAGGTGCGAGTGCG/TTACTTAGTTTGTTCGCAAGGACTGCA
HarmOR18F/HarmOR18R	ATGGAATGAAAGTAGACGTCTAC/TTAAGCAGTAATCAAAGTGAAGAAA
HarmOR19F/HarmOR19R	ATGAAAGACCGAGACATATTGTTA/TTATGTTTTCTGACACATAACAAA
HarmOR20F/HarmOR20R	GAATTCAAGCCGTTTCATGAAA/TTAGGATCTCAGCAATGTAAACATT
HarmOR21F/HarmOR21R	ATGGATCACTTTTCAGGCTATTAT/TTAATACAGCACTGAAAATACTGAA

1.5 PCR 产物克隆、鉴定及序列测定

PCR 产物中与目标条带大小相当的片段经电泳回收纯化后, 连接到 T-easy 载体上(按试剂盒说明进行), 然后转化到大肠杆菌 DH5 α , 挑取白色菌落, 培养后提取少量质粒用 *Eco*R I 酶切鉴定重组阳性克隆。挑选含有目的片段的阳性克隆, 放入含有 Amp100 μ g/ μ L 的 LB 培养液震荡过夜, 碱法提取质粒, 采用 ABI3730 全自动测序仪测序。测序结果在 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 网站进行比对分析。

1.6 建立棉铃虫典型气味受体进化树

为了比较棉铃虫气味受体与烟芽夜蛾和果蝇已知气味受体和味觉受体的进化关系, 并通过这种关系预测克隆得到的气味受体的功能, 我们采用 Mega 4.0 软件 (Tamura *et al.*, 2007) 中的邻位相连法 (Neighbor-joining) 构建棉铃虫、烟芽夜蛾和果蝇气味受体和味觉受体进化树, 系统发生树进行了 1 000 次重复构建。

1.7 棉铃虫非典型气味受体表达谱分析

在表达谱分析中采用半定量 RT-PCR 法, 以 1 μ L cDNA 为模板, 加入 10 $\times$ *Ex Taq* 缓冲液 5 μ L (含 Mg²⁺), 正向和反向引物 (表 2) 各 1 μ L

(10 μ mol/L), 内标基因 *β -actin* 的扩增引物各 1 μ L, 2.5 mmol/L dNTP 4 μ L, *Ex Taq* DNA 聚合酶 0.25 μ L (5 U/ μ L), 加水至 50 μ L。反应条件为 94 $^{\circ}$ C 3 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 55 $^{\circ}$ C 1 min, 72 $^{\circ}$ C 3 min, 28 个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min。PCR 产物用 1.0% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

2 结果与分析

2.1 序列测定

由于 PCR 采用了低严谨的步骤, PCR 产物中包含一些非特异性条带, 经筛选比对后得到 11 条棉铃虫气味受体 cDNA 序列, 根据所对应的烟芽夜蛾气味受体基因序列命名为 *HarmOR2*, *HarmOR3*, *HarmOR4*, *HarmOR9*, *HarmOR10*, *HarmOR11*, *HarmOR12*, *HarmOR13*, *HarmOR14*, *HarmOR18* 和 *HarmOR20*, 在 GenBank 登录号为 EU599565 ~ EU599568, EU818702 ~ EU818706, FJ393455。其中有 7 条为全长序列, 4 条为 5' 端不完整的序列。棉铃虫气味受体氨基酸序列 (图 1) 与对应的烟芽夜蛾气味受体氨基酸序列同源性最低为 80.8%, 最高达到 99.1%, 特别是在 C 端二者同源性达到 100%。

表 2 用于半定量 RT-PCR 的引物
Table 2 Primers used in semi-quantitative RT-PCR

引物名称 Primer names	引物序列 (5' - 3') Primer sequences (5' - 3')
HarmOR2SF/HarmOR2SR	ATGTCAAACCTCCTCCGTAA/CTCCGTGAACAGTGGGTGGC
HarmOR3SF/HarmOR3SR	GAGCTGAGGGATCTGACTTA/TACACGCATCAGAGTTACCA
HarmOR4SF/HarmOR4SR	CCGAATGTCACAGGTCGTATC/AGAGGTAGAAGCCCAGGTAGTT
HarmOR9SF/HarmOR9SR	GTGTACGGACCCGACTGTTT/ATGCTGGATCTCATTTATAGTATCG
HarmOR10SF/HarmOR10SR	GTCAGCCGACTCAGAGGAAG/AGGAATAGGACCAGCGTAGA
HarmOR11SF/HarmOR11SR	TCAGTGGATGCTACGCCACA/GCAACACGGCAACTTCTTCG
HarmOR12SF/HarmOR12SR	GATTTGGTCAGAAGTCGTGCTC/GTGTCCGAAGTCATCAAGAGC
HarmOR13SF/HarmOR13SR	TTCTACACGGTCTACTTACTCG/GAAAGCGTTTGACATTTCTG
HarmOR14SF/HarmOR14SR	TTACTGCTCAAATGCTGGCT/CAGGTGGAACATAGGTATGAGATA
HarmOR18SF/HarmOR18SR	GTGCTCTCGTTCTGTTCTT/TTCTACTCCGTATGCTTTCTA
HarmOR20SF/HarmOR20SR	CAGGCATAGCACTGTTGTTG/GTTCCAGCATAGACCGAAGA
β-actinS/β-actinR	CACAGATCATGTTCCAGACGTTCAA/GCCAACTCCAGACGCAGGAT

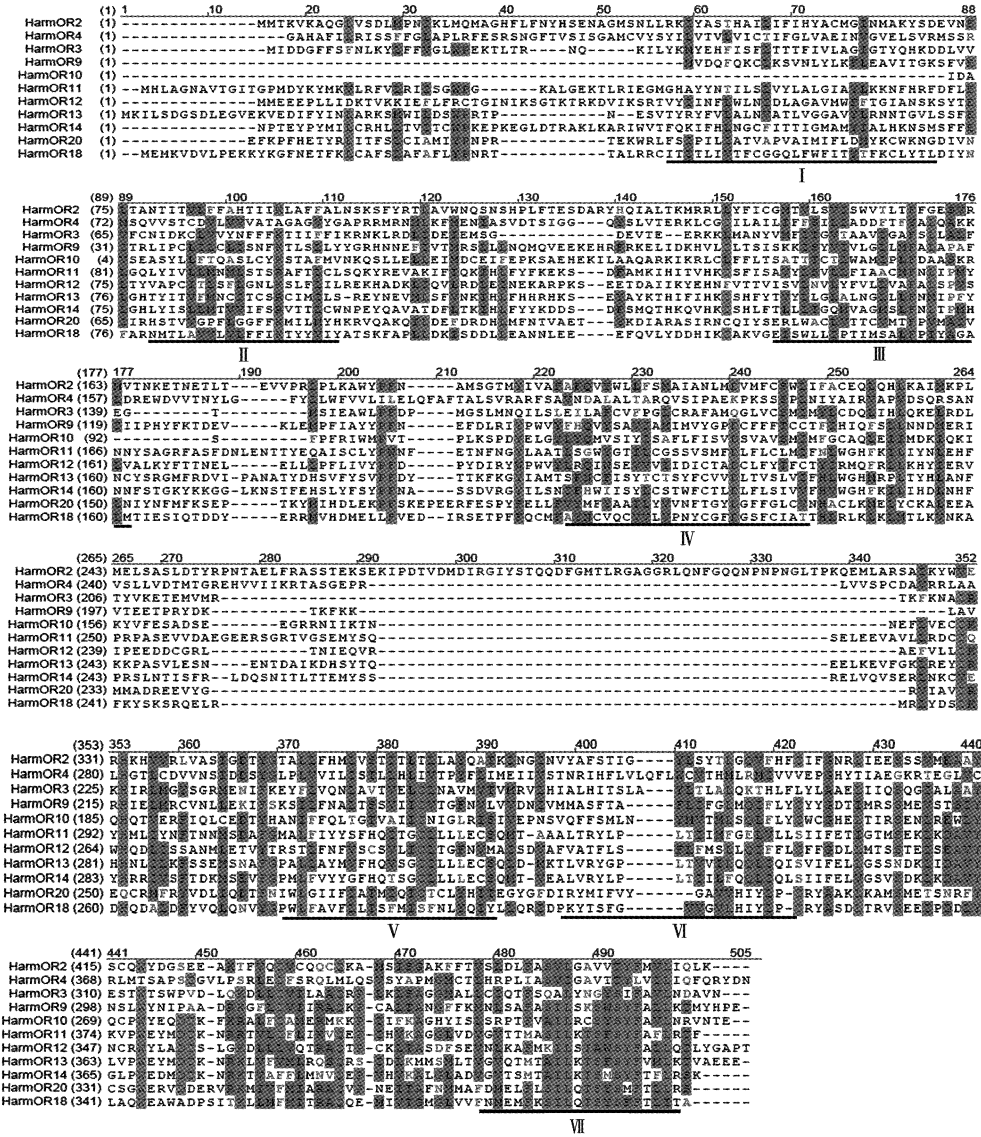


图 1 棉铃虫气味受体氨基酸序列比对

Fig. 1 Alignment of amino acid sequences deduced from the HarmORs cDNAs

I - VII: 气味受体跨膜区位置 The predicted positions of seven putative transmembrane domains.

进化树表明 HarmOR2 为非典型气味受体, HarmOR10 与果蝇 DOr46a 进化关系较近, HarmOR4 与果蝇味觉受体聚类在一起。其他的棉

铃虫气味受体与烟芽夜蛾气味受体单独或几个一起处于与果蝇气味受体进化关系较远的聚类中, 而且彼此聚类关系较远(图 2)。

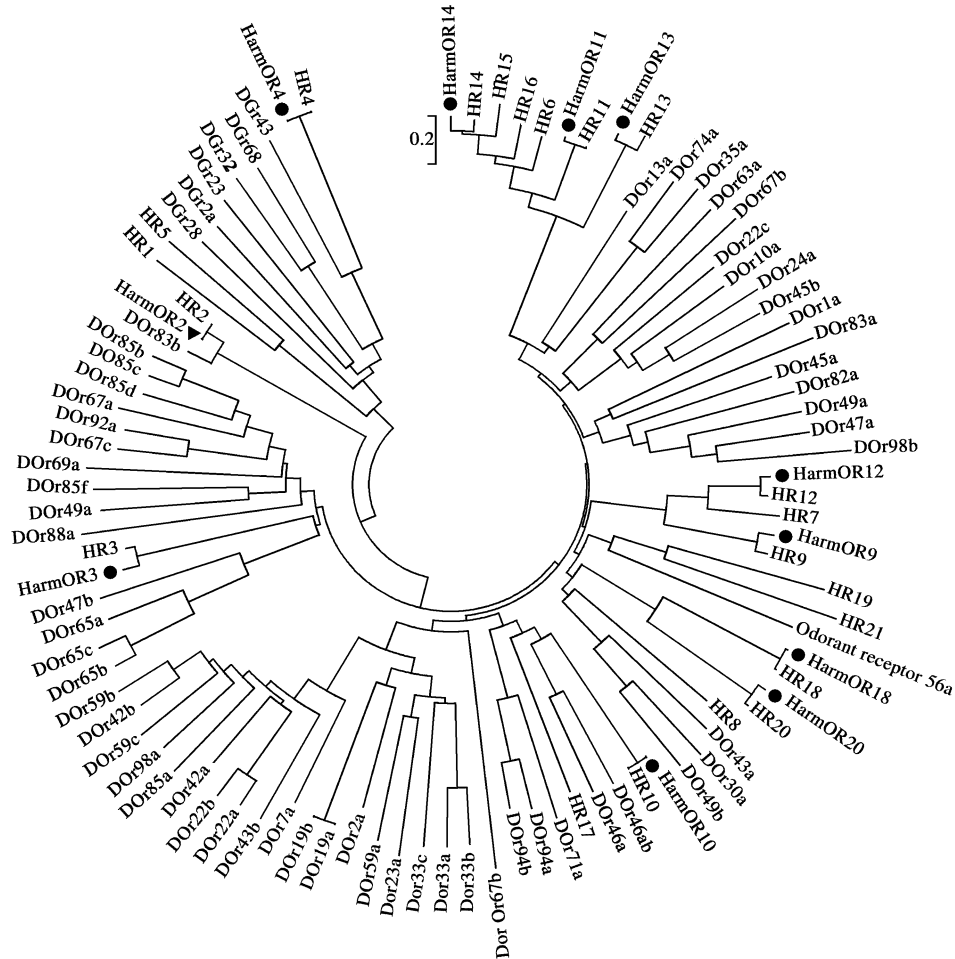


图 2 棉铃虫 (HarmOR), 烟芽夜蛾 (HR) 和果蝇 (DOr, DGr) 气味受体系统进化树分析

Fig. 2 Phylogenetic relationships showing the sequence relatedness between putative olfactory receptors of *Helicoverpa armigera* (HarmOR), *Heliothis virescens* (HR) and *Drosophila melanogaster* (DOr, DGr)

2.2 棉铃虫非典型气味受体表达谱

通过半定量 RT-PCR 研究发现除 HarmOR2 在触角与喙中表达外, 克隆得到其他 10 条气味受体基因只在棉铃虫成虫触角中表达, 其中 HarmOR3, HarmOR13 和 HarmOR14 只在雄蛾触角中表达; HarmOR4, HarmOR12 和 HarmOR20 在雌蛾触角中的表达量高于雄蛾; HarmOR18 在雄蛾触角中的表达量高于雌蛾; 其他气味受体在雌雄蛾触角中表达量相当(表 3)。

3 讨论

昆虫中的气味受体与脊椎动物中的气味受体不

同, 除了非典型气味受体同源性较高外, 典型气味受体同源性很低。长期以来研究者是使用生物信息学分析昆虫的基因组序列来寻找气味受体的。烟芽夜蛾是实夜蛾属 *Heliothis* 昆虫, 研究者通过分析其基因组然后在 cDNA 文库中钓出了 21 个气味受体序列, 其中包括一个非典型气味受体 (Krieger *et al.*, 2002, 2004)。笔者通过比对烟芽夜蛾与棉铃虫气味结合蛋白序列发现二者有很高的同源性, 从而设想气味受体序列之间可能也有很高的同源性, 于是根据已知烟芽夜蛾典型气味受体序列, 在其读码框两端(5'端不完整的序列最右端)设计保守引物进行低严谨的 PCR 扩增, 从而得到 11 条棉铃虫

表 3 棉铃虫气味受体在棉铃虫不同部位中的表达
Table 3 The expression levels of HarmORs in different parts of *Helicoverpa armigera*

基因 Gene	触角		头		胸		腹		足		翅		喙		下颚须	
	Antenna		Head		Thorax		Abdomen		Leg		Wing		Proboscis		Maxillary palpus	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
HarmOR2	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
HarmOR3	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HarmOR4	++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HarmOR9	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HarmOR10	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HarmOR11	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HarmOR12	+	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HarmOR13	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HarmOR14	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HarmOR18	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HarmOR20	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β-actin	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

♂: 雄性棉铃虫成虫 Male moth; ♀: 雌性棉铃虫成虫 Female moth; +++: 很亮的 PCR 条带 Very intensive PCR-band; ++: 介于很亮与很弱之间的 PCR 条带 PCR-band with medium intensity; +: 很弱的 PCR 条带 Very faint RCR-band. β-actin: 内标 Internal control.

气味受体基因序列，其中 *HarmOR2* 与王桂荣等 (2005) 克隆得到的非典型气味受体基因序列相同。这是首次利用不同属昆虫间的气味受体保守性，通过 RT-PCR 的方法扩增得到典型性气味受体序列。

烟芽夜蛾与棉铃虫同为杂食性昆虫，烟芽夜蛾主要分布于美洲，而棉铃虫的分布则较广，遍布非洲、南欧、中亚、东南亚、澳大利亚。它们具有相似的习性和共同的寄主如棉花、烟草和蔬菜类，这也许可以说明二者之间一些气味受体同源性高的原因，而二者不同气味受体可能与它们不同的生境和特异的习性有关(赵新成等, 2003)。

通过进化树的分析，可以看出棉铃虫与烟芽夜蛾气味受体进化关系很近，而与已知的果蝇气味受体有着很远的进化关系。棉铃虫气味受体与果蝇气味受体间的分化符合昆虫间同源性很低一般规律，而与不同属类昆虫烟芽夜蛾间的高度同源在昆虫界则是很少见的，这可能属于分类上的原因或特殊的进化关系。

虽然棉铃虫与烟芽夜蛾相同种类气味受体有着很高的同源性，其表达谱却不尽相同。在烟芽夜蛾中，*HR3* 和 *HR4* 在雌雄蛾触角和喙中无性别差异表达，而对应的 *HarmOR3* 只在雄蛾触角中表达，且 *HarmOR3* 和 *HarmOR4* 不在喙中表达。*HR11* 在烟芽夜蛾雌雄触角中表达，雄性表达量高于雌性，

HarmOR11 在雌雄蛾触角中无性别差异表达；*HR13* 在烟芽夜蛾中全身中有表达；*HarmOR13* 只在雄蛾触角中特异性表达，*HR2* (*HarmOR2*)，*HR9* (*HarmOR9*) 和 *HR14* (*HarmOR14*) 表达谱在两种昆虫中表达谱相同(Krieger *et al.*, 2002, 2004)。这种差异还需要在对其功能进行研究后才能解释。

气味受体在昆虫气味识别中的作用也得到广泛的证明。通过在果蝇突变体触角中神经元中单个表达气味受体，通过电生理学记录神经元对单个气味刺激的反应，研究者制作出果蝇气味受体对气味的反应图谱(Hallem *et al.*, 2004)。冈比亚按蚊幼虫气味受体对气味反应图谱随后也被制作出(Xia *et al.*, 2004)。尽管研究发现一种受体可以识别多种气味，一种气味被几种不同的气味受体所识别(Malmic *et al.*, 1999)，但在果蝇幼虫中发现只要有表达一类气味受体的功能感觉神经元，就能完成对某种气味的化学趋性，一类神经元只在对一部分气味的识别中起作用(Fishilevich *et al.*, 2005)。在敲除 *Dor43a* 后，果蝇对苯甲醛的驱避行为明显降低(Storkuhl *et al.*, 2005)。通过异源表达结合电生理已在家蚕、果蝇、烟芽夜蛾中鉴定出与性信息素有关的气味受体(Sakurai *et al.*, 2004)。

对气味受体这方面的深入研究与以前的化学生态学的研究结果相结合，能较完整地解释昆虫取

食、产卵、驱避和求偶的生化 and 分子机制, 阐明害虫行为反应的本质原因, 为研制对昆虫两性均有吸引力的高效引诱剂提供理论依据, 为防治害虫提供新的思路与途径, 如为利用基因工程的方法治理害虫提供理论基础。

参 考 文 献 (References)

- Benton R, 2008. Chemical sensing in *Drosophila*. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 18: 1–7.
- Benton R, Sachse S, Michnick SW, Vosshall LB, 2006. Atypical membrane topology and heteromeric function of *Drosophila* odorant receptors *in vivo*. *PLoS. Biol.*, 4: e20.
- Bohbot J, Pitts RJ, Kwon HW, Rützler M, Robertson HM, Zwiebel LJ, 2007. Molecular characterization of the *Aedes aegypti* odorant receptor gene family. *Insect Mol. Biol.*, 16: 525–537.
- Chesler A, Firestein S, 2008. Current views on odour receptors. *Nature*, 452: 24.
- Couto A, Alenius M, Dickson BJ, 2005. Molecular, anatomical, and functional organization of the *Drosophila* olfactory system. *Curr. Biol.*, 15: 1 535–1 547.
- Fishilevich E, Domingos AI, Asahina K, Naef F, Vosshall LB, Louis M, 2005. Chemotaxis behavior mediated by single larval olfactory neurons in *Drosophila*. *Curr. Biol.*, 15: 2 086–2 096.
- Fox AN, Pitts RJ, Robertson HM, Carlson JR, Zwiebel LJ, 2001. Candidate odorant receptors from the malaria vector mosquito *Anopheles gambiae* and evidence of down-regulation in response to blood feeding. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98 (25): 14 693–14 697.
- Guo YY, 1998. Studies on Cotton Bollworm. China Agriculture Press, Beijing. [郭予元, 1998. 棉铃虫的研究. 北京: 中国农业出版社]
- Hallem EA, Dahanukar A, Carlson JR, 2006. Insect odor and taste receptors. *Annu. Rev. Entomol.*, 51: 113–135.
- Hallem EA, Ho MG, Carlson JR, 2004. The molecular basis of odor coding in the *Drosophila* antenna. *Cell*, 117: 965–979.
- Hill CA, Fox AN, Pitts RJ, Kent LB, Tan PL, Chrystal MA, Cravchik A, Collins FH, Robertson HM, Zwiebel LJ, 2002. G protein-coupled receptors in *Anopheles gambiae*. *Science*, 298 (5 591): 176–178.
- Jones WD, Nguyen TT, Kloss B, Lee KJ, Vosshall LB, 2005. Functional conservation of an insect odorant receptor gene across 250 million years of evolution. *Curr. Biol.*, 15(4): R119–121.
- Kain P, Chakraborty TS, Sundaram S, Siddiqi O, Rodrigues V, Hasan G, 2008. Reduced odor responses from antennal neurons of G(q) alpha, phospholipase Cbeta, and rdgA mutants in *Drosophila* support a role for a phospholipid intermediate in insect olfactory transduction. *J. Neurosci.*, 28: 4 745–4 755.
- Krieger J, Grosse-Wilde E, Gohl T, Dewer YME, Raming K, Breer H, 2004. Genes encoding candidate pheromone receptors in a moth (*Heliothis virescens*). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101: 11 845–11 850.
- Krieger J, Raming K, Dewer YM, Bette S, Conzelmann S, Breer H, 2002. A divergent gene family encoding candidate olfactory receptors of the moth *Heliothis virescens*. *Eur. J. Neurosci.*, 16 (4): 619–628.
- Larsson MC, Domingos AI, Jones WD, Chiappe ME, Amrein H, Vosshall LB, 2004. Or83b encodes a broadly expressed odorant receptor essential for *Drosophila* olfaction. *Neuron*, 43: 703–714.
- Lundin C, Kall L, Kreher SA, Kapp K, Sonnhhammer EL, Carlson JR, Heijne G, Nilsson I, 2007. Membrane topology of the *Drosophila* OR83b odorant receptor. *FEBS Lett.*, 581: 5 601–5 604.
- Malnic B, Hirono J, Sato T, Buck LB, 1999. Combinatorial receptor codes for odors. *Cell*, 96: 713–723.
- Nakagawa T, Sakurai T, Nishioka T, Touhara K, 2005. Insect sex-pheromone signals mediated by specific combinations of olfactory receptors. *Science*, 307: 1 638–1 642.
- Pennisi E, 1999. Fruit fly odor receptors found. *Science*, 283: 1 239.
- Robertson HM, Wanner KW, 2006. The chemoreceptor superfamily in the honey bee, *Apis mellifera*: Expansion of the odorant, but not gustatory, receptor family. *Genome Res.*, 16(11): 1 395–1 403.
- Sakurai T, Nakagawa T, Mitsuno H, Mori H, Endo Y, Tanoue S, Yasukochi Y, Touhara K, Nishioka T, 2004. Identification and functional characterization of a sex pheromone receptor in the silkworm *Bombyx mori*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101 (47): 16 653–16 658.
- Sato K, Pellegrino M, Nakagawa T, Nakagawa T, Vosshall LB, Touhara K, 2008. Insect olfactory receptors are heteromeric ligand-gated ion channels. *Nature*, 452: 1 002–1 006.
- Smart R, Kiely A, Beale M, Vargas E, Carraher C, Kralicek AV, Christie DL, Chen C, Newcomb RD, Warr CG, 2008. *Drosophila* odorant receptors are novel seven transmembrane domain proteins that can signal independently of heterotrimeric G proteins. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 38: 770–780.
- Stortkuhl KF, Kettler R, Fischer S, Hovemann BT, 2005. An increased receptive field of olfactory receptor Or43a in the antennal lobe of *Drosophila* reduces benzaldehyde-driven avoidance behavior. *Chem. Senses*, 30: 81–87.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S, 2007. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evol.*, 24: 1 596–1 599.
- Wang GR, Wu KM, Su HH, Guo YY, 2005. Gene cloning and tissue-specific expression of an olfactory receptor in *Helicoverpa armigera*. *Acta Entomol. Sin.*, 48(6): 823–828. [王桂荣, 吴孔明, 苏宏华, 郭予元, 2005. 棉铃虫嗅觉受体基因的克隆及组织特异性表达. 昆虫学报, 48(6): 823–828]
- Wanner KW, Anderson AR, Trowell SC, Theilmann DA, Robertson HM, Newcomb RD, 2007. Female-biased expression of odorant receptor genes in the adult antennae of the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Mol. Biol.*, 16(1): 107–119.
- Wicher D, Schäfer R, Bauernfeind R, Stensmyr MC, Heller R, Heinemann SH, Hansson BS, 2008. *Drosophila* odorant receptors are both ligand-gated and cyclic-nucleotide-activated cation channels. *Nature*, 452: 1 007–1 011.
- Wistrand M, Kall L, Sonnhhammer EL, 2006. A general model of G

- protein-coupled receptor sequences and its application to detect remote homologs. *Protein Sci.*, 15: 509 – 521.
- Xia Y, Wang G, Buscariollo D, Pitts RJ, Wenger H, Zwiebe LJ, 2008. The molecular and cellular basis of olfactory-driven behavior in *Anopheles gambiae* larvae. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105: 6 433 – 6 438.
- Zhao XC, Yan YH, Wang CZ, 2003. The sex-pheromone communication system of *Heliothis/Helicoverpa* species (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Entomol. Sin.*, 46 (1): 96 – 107. [赵新成, 阎云花, 王琛柱, 2003. 实夜蛾属和铃夜蛾属昆虫性信息素通讯系统的研究进展. 昆虫学报, 46 (1): 96 – 107]

(责任编辑: 邓艳)